

De PLMA25-studie:

infusie van uit navelstrengbloedstamcellen opgekweekte allogene NK-cellen bij patiënten met acute myeloïde leukemie die niet in aanmerking komen voor stamceltransplantatie

The PLMA25 study:

infusion of ex vivo-cultured cord blood derived allogeneic NK cells in acute myeloid leukemia patients not eligible for stem cell transplantation

M.W.H. Roeven, J. Spanholtz, H. Dolstra en N. Schaap

Samenvatting

Deze HOVON-‘associated’ studie is gericht op oudere patiënten met acute myeloïde leukemie die niet in aanmerking komen voor een allogene stamceltransplantatie. Patiënten in complete remissie na chemotherapie worden behandeld met uit navelstrengbloedstamcellen opgekweekte ‘natural killer’-cellen (NK-cellen). Pre-klinisch onderzoek doet vermoeden dat deze cellen een anti-leukemisch effect kunnen hebben. In deze fase I dosisescalatiestudie wordt de veiligheid van ex vivo gekweekte NK-cellen onderzocht. Tevens wordt gekeken naar de in-vivo-overleving, vermeerdering en het effect op residuale ziekte.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2013;10:233-5)

Summary

This HOVON-associated study is designed for elderly acute myeloid leukemia patients who are not eligible for allogeneic stem cell transplantation. Patients who have successfully achieved complete remission after chemotherapy are treated with natural killer cells (NK-cells) generated ex vivo from umbilical cord blood progenitor cells. Previous studies suggest that these cells can have an anti-leukemic effect. This phase I dose escalation study investigates safety of ex vivo generated NK-cells. Secondary objectives are in vivo lifespan and expansion of infused NK-cells, and the effect on residual disease.

Achtergrond

Meer dan tweederde van de patiënten met acute myeloïde leukemie (AML) is ouder dan 60 jaar. Deze patiënten worden behandeld met chemotherapie. Met deze behandeling bereikt 45-55% complete remissie. Na 5 jaar is de overleving echter gedaald tot 5-15%. In de laatste decennia is er ondanks intensief onderzoek naar nieuwe chemotherapeutische behandelingen geen verbetering in overleving bereikt.^{1,2} Allogene stamceltransplantaties kunnen jongere pa-

tiënten genezen, terwijl het nut hiervan bij fitte oudere patiënten onderwerp van studie is (HOVON93). Er blijft echter een grote groep over waarvoor alternatieve consolidatie beter geschikt lijkt. Het antileukemische effect van allogene stamceltransplantatie berust op een immunologische reactie van het donorafweersysteem tegen de leukemiecellen van de ontvanger. Vaak is er echter ook een reactie tegen gezonde cellen van de ontvanger waardoor graft-versus-hostziekte (GvHD) ontstaat. Bij de reactie van het donorafweer-

Auteurs: mw. drs. M.W.H. Roeven, internist in opleiding/onderzoeker, afdeling Hematologie, UMC St Radboud, dhr. dr. J. Spanholtz, R&D manager, Glycostem Therapeutics, dhr. dr. H. Dolstra, assistant professor immunologie, afdeling Laboratoriumgeneeskunde, UMC St Radboud, dhr. dr. N. Schaap, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, UMC St Radboud. Correspondentie graag richten aan mw. drs. M.W.H. Roeven, internist in opleiding/onderzoeker, afdeling Hematologie, UMC St Radboud, Huispostnummer 476, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen, tel.: 024 361 69 28, e-mailadres: m.roeven@aig.umcn.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: acute myeloïde leukemie, infusie, ‘natural killer’-cellen, PLMA25-studie

Key words: acute myeloid leukemia, infusion, natural killer cells, PLMA25 study

systeem tegen de leukemiecellen van de ontvanger zijn naast alloreactieve T-cellen vermoedelijk ook 'natural killer' (NK)-cellen betrokken. NK-cellen vormen een subpopulatie van lymfocyten die een onderdeel vormen van het aangeboren immuunsysteem. De activatie van NK-cellen wordt gereguleerd door een complex systeem van remmende en activerende receptoren. De balans tussen deze receptoren bepaalt of een NK-cel wordt geactiveerd en zijn targetcellen kan aanvallen. Een belangrijke groep NK-celreceptoren wordt gevormd door de 'killer-cell immunoglobulin-like receptoren' (KIR's). Deze KIR's binden aan HLA-A-, HLA-B- of HLA-C-moleculen. Elke rijpe NK-cel brengt minstens 1 remmende KIR tegen een eigen HLA-molecuul tot expressie. In de allogenetransplantatiesetting kan het voorkomen dat patiënten geen remmende KIR-liganden hebben tegen NK-cellen van de donor. Er is dan sprake van NK-cel-alloreactiviteit.³ Ruggeri et al. lieten zien dat bij haplo-identieke stamceltransplantaties NK-cel-alloreactiviteit is geassocieerd met een lagere recidiefkans.⁴ Baron et al. lieten zien dat snelle repopulatie van NK-cellen na allogene stamceltransplantatie gecorreleerd is met een verminderde 'relapse rate' zonder toename van GvHD.⁵ Bovendien lieten Miller et al. zien dat met behandeling met allogene NK-cellen verrijkt uit perifere bloed in combinatie met immuunsuppressieve chemotherapie buiten de transplantatiesetting complete remissies kunnen worden bereikt.⁶ De bovenstaande bevindingen doen vermoeden dat NK-cellen een antileukemisch effect kunnen bewerkstelligen en maken het gebruik van NK-cellen tot een in potentie veelbelovende immunotherapeutische strategie in de strijd tegen leukemie.

Doel

We hebben in Nijmegen in samenwerking met Glycostem Therapeutics een ex-vivo-kweekmethode ontwikkeld waarmee grote aantallen NK-cellen onder 'Good Manufacturing Practice' (GMP) kunnen worden gekweekt uit navelstrengbloedstamcellen. Deze cellen zijn geheel vrij van T-cellen en bevatten een zeer gering aantal B-cellen, waardoor het risico op GvHD- en EBV-gerelateerde lymfomen nihil is. Tevens is uitgesloten dat een mogelijk antileukemisch effect het gevolg is van alloreactieve T-cellen. In-vitro- en in-vivo-proefdierstudies hebben het antileukemisch effect van deze ex vivo gekweekte NK-cellen aange-

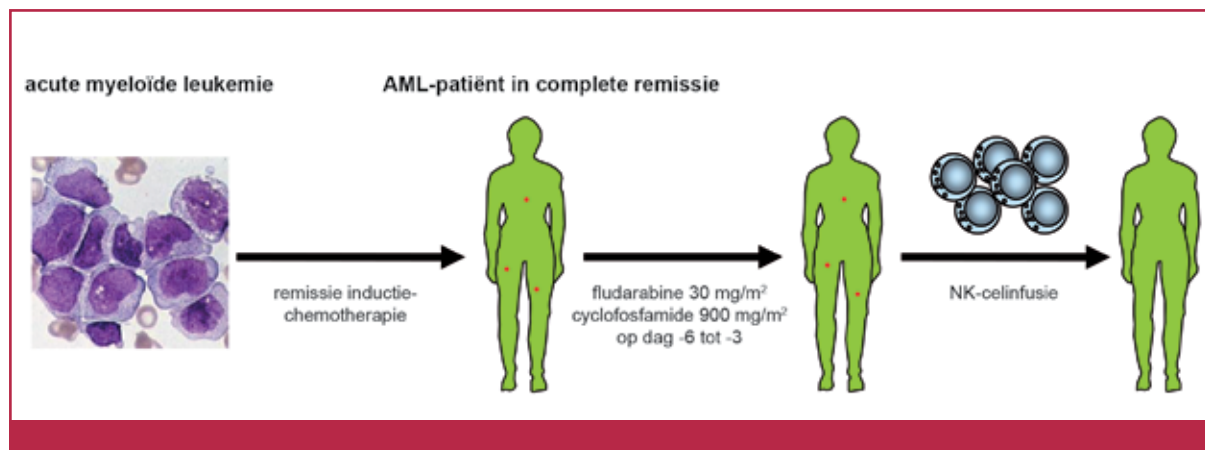
toond.^{7,8} Het doel van deze klinische fase I-studie is het onderzoeken van de veiligheid, toxiciteit en maximaal toelaatbare dosis van de toediening van deze NK-cellen na een niet-myeloablatieve conditionering bij oudere AML-patiënten. Secundaire eindpunten zijn de in-vivo-overleving en expansie van NK-cellen en het effect op residuale ziekte.

Studieopzet

De studie betreft een fase I dosisescalerende studie. Patiënten ouder dan 55 jaar die niet in aanmerking komen voor allogene stamceltransplantatie kunnen worden geïncludeerd als ze in complete remissie zijn na conventionele chemotherapie. Er zal dan een HLA-typing worden verricht. Aan de hand van deze HLA-typing wordt in navelstrengbloed met een optimale NK-alloreactiviteit op basis van een mismatch in KIR-liganden en actief KIR-genotype geselecteerd. Uit dit navelstrengbloed worden CD34-positieve stamcellen geselecteerd. Aanvankelijk werden alleen patiënten homozygoot voor HLA-C groep 1 of 2 geïncludeerd. Recentelijk is een amendement door de CCMO goedgekeurd, waardoor ook AML-patiënten heterozygoot voor HLA-C groep 1 en 2 kunnen worden geïncludeerd. De cellen worden vervolgens in 6 weken opgekweekt tot functionele NK-cellen. Een week voor de toediening van de NK-cellen worden patiënten opgenomen. Ze worden gedurende 4 dagen behandeld met cyclofosfamide (900 mg/m²/dag) en fludarabine (30 mg/m²/dag). Het doel van deze chemotherapie is het voorkomen van directe afstoting van allogene NK-cellen en toename van endogene cytokineproductie aangezien dit de in-vivo-overleving van NK-cellen bevordert.⁶ Vervolgens krijgen patiënten NK-cellen toegediend. De dosis NK-cellen zal per cohort van 3 patiënten worden verhoogd. Er zullen 4 cohorten worden behandeld (doses 3 x 10⁶/kg, 10 x 10⁶/kg, 30 x 10⁶/kg, 100 x 10⁶/kg). Patiënten zullen nauwkeurig worden gevolgd op het ontwikkelen van toxiciteit. Verder zal regelmatig bloedonderzoek en op enkele momenten ook beenmergonderzoek plaatsvinden om biologische parameters en de remissiestatus te bekijken (zie *Figuur 1*).

Stand van zaken

Momenteel is het eerste cohort behandeld. Tevens zijn de eerste 2 patiënten van het tweede cohort be-



Figuur 1. Studieopzet PLMA25-studie.

handeld. Tot op heden hebben zich geen ‘serious adverse events’ (SAE’s) voorgedaan. De voorbehandeling met cyclofosfamide en fludarabine leidde tot hematologische toxiciteit die met name tot uiting kwam in het optreden van cytopeniën. Enkele patiënten zijn daardoor tijdelijk transfusieafhankelijk geweest. De cytopeniën hebben echter niet geleid tot infecties of heropnamen. De gemiddelde opname-duur was 19 dagen (9-31 dagen). Door middel van chimerisiebepalingen hebben we na infusie NK-cellen in het perifere bloed kunnen aantonen met een maximale concentratie 6 dagen na toediening.

Oproep voor patiënten

Wij nodigen iedereen uit om patiënten te includeren voor deze studie. Indien u oudere patiënten met AML behandelt die niet in aanmerking komen voor een stamceltransplantatie, kunt u contact met ons opnemen. Om de tijd tussen het afronden van de chemotherapie en de NK-celinfusie te beperken is het niet nodig om te wachten tot na de afronding van de kuren voor u contact opneemt.

Het integrale protocol is te raadplegen op www.hovon.nl.

Referenties

1. Ferrara F, Schiffer CA. Acute myeloid leukaemia in adults. *Lancet* 2013;381:484-95.
2. Sekeres MA. Treatment of older adults with acute myeloid leukemia: state of the art and current perspectives. *Haematologica* 2008;93:1769-72.
3. Ljunggren HG, Malmberg KJ. Prospects for the use of NK cells in immunotherapy of human cancer. *Nature Reviews Immunology* 2007;7:329-39.
4. Ruggeri L, Mancusi A, Capanni M, et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood* 2007;110:433-40.
5. Baron F, Petersdorf EW, Gooley T, et al. What is the role for donor natural killer cells after nonmyeloablative conditioning? *Biology of blood and marrow transplantation. J Am Soc Blood Marrow Transplant* 2009;15:580-8.
6. Miller JS, Soignier Y, Panoskaltis-Mortari A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer. *Blood* 2005;105:3051-7.
7. Spanholtz J, Preijers F, Tordoir M, et al. Clinical-grade generation of active NK cells from cord blood hematopoietic progenitor cells for immunotherapy using a closed-system culture process. *PLoS One* 2011;6:e20740.
8. Cany J, Van der Waart AB, Tordoir M, et al. Natural killer cells generated from cord blood hematopoietic progenitor cells efficiently target bone marrow-residing human leukemia cells in NOD/SCID/IL2Rg^{tm1} mice. *PLoS One* 2013;8:e64384.

Ontvangen 18 april 2013, geaccepteerd 11 juni 2013.